

カニクイザルとヒト疾病関連遺伝子の比較解析

楠 田 潤 国立感染症研究所 遺伝子資源室

カニクイザル脳で発現している神経疾患関連遺伝子をヒト相同遺伝子とその構造と発現について比較することで、進化に伴う脳機能の高度化に貢献した遺伝子群を同定することを目的とする。75種類のカニクイザルの神経疾患遺伝子ホモログに重複する251クローンについて挿入配列全長を解読したところ、181配列(72%)は完全なORFをコードしており、50配列(20%)はスプライシングの異常によると思われる欠失や挿入を含むことが分かった。なかでも33配列は公開されているデータベース中には該当するヒトcDNA配列がみつからず、新規のスプライス変異体である可能性が示唆された。このようなスプライス変異体はその出現と組織における発現量比を詳しく調べれば霊長類のヒト化に伴う脳機能の精緻化や神経疾患の発症との関連性を明らかにする手がかりになるものと思われる。

A. 研究目的

神経疾患は遺伝的あるいは環境的要因が関係する複雑な病気であり、仮に原因遺伝子が同定されても、その発症については不明な点が多い。われわれはヒトに近縁な霊長類の神経疾患遺伝子ホモログを単離し、ヒト遺伝子と比較することで神経疾患遺伝子の機能やその発症機構を類推することをめざしている。これまでに60,000個のカニクイザル脳に由来するcDNAクローンからヒト神経疾患遺伝子に相補的な遺伝子を選別し、そのうち一部の遺伝子については全長配列を決定してヒト疾患遺伝子と比較したところ、ヒトで発症につながるようなアミノ酸の置換が種間の変異と共通する例がいくつかみられ、カニクイザルではこのよ

うな遺伝子の変異があっても症状としてあらわれないことがわかった。本年度は全長配列が得られた遺伝子について重複するクローンの配列を決定し、転写後に起こるスプライシングの異常によって生じた変異体を同定し、これらの分布や発現を両種で比較することにより、脳機能の進化や神経疾患の発症との関係を追求する。

B. 研究方法

この研究で神経疾患関連遺伝子と称するのはその遺伝子の変異が直接疾患を引き起こすもの、すなわち、原因遺伝子の他、遺伝子の異常が間接的に発症に影響を与える遺伝子も含む。神経疾患関連遺伝子のカタログを作製するためワシントン大学神経筋

疾患センターのWebサイト

(<http://www.neuro.wustl.edu/neuromuscular>) 上にある中枢神経および抹消神経疾患のインデックスとNCBIのOMIM

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80/0mim>) を参照し、既に原因遺伝子が単離された413遺伝子を選別し、カニクイザル相同遺伝子の検索に用いた。

ヒトもしくはカニクイザルの神経疾患遺伝子のエクソン構成はcDNA配列をUCSCの検索サイトでヒトゲノム配列にアラインメントして求めた。

C. 研究結果

これまで 60,000 個のカニクイザル脳に由来する cDNA クローンから 5' 端配列を手がかりに 413 種類の神経疾患遺伝子配列に相同性をもつものを検索したところ、176 遺伝子に対応する 764 クローンが得られた。また翻訳開始コドンを含むクローンについては挿入 cDNA の配列を決定し、75 遺伝子の全長配列を得た。本年度はこれらの 75 遺伝子について重複する 251 クローンを選択し、その挿入配列を決め、ヒトのレファレンス配列と比較すると同時に、UCSC のヒトゲノムデータベースを用いエクソン構成を推定してヒトの相同遺伝子と比較した。その結果 (表 1) によれば 181 配列 (72%) は完全な ORF をコードしており、50 配列 (20%) はスプライシングの異常による欠失や挿入を含むものであった。また、10 配列はゲノム配列の種間の違いによるもので、残りの 10

配列はクローニングもしくはシーケンシングにおけるエラーによるものであった。

スプライシング異常配列 (表 2) のうち 12 配列は中央に欠失/挿入があるものの、翻訳終点まで ORF が保存されているもので、残りの 38 配列は途中で ORF が中断するか別のアミノ酸配列に置き換わったものであった。また、このうち 33 配列は公開されているデータベース上に該当するヒト cDNA 配列がみつからず、カニクイザル特異的な新規スプライス変異体である可能性が示唆された。

ゲノム DNA の種間差によると思われる異常転写産物が 4 遺伝子に帰属する 10 配列で見つかった。それらは 1) 1 アミノ酸に相当する 3 塩基の欠失を含むもの (HADHB, LMNA), 2) スプライスコンセンサス配列に変異のあるもの (GM2A), 3) 翻訳開始シグナルに変異があるため、翻訳が上流から開始したもの (FUCA1) などであった。

D. 考 察

ヒトはそれ以外の霊長類からほんの20万年まえに分岐したにもかかわらず、そのゲノム配列には僅かな差しかなく、この違いがヒトに特有な形態、行動、さらに知能を特徴づけ得るとは到底考えられず、むしろ各遺伝子の組織、あるいは時間的な発現量のバランスが、ヒトと非ヒト霊長類の違いを生むという仮説が現在では一般化しつつある。

ヒトのcDNAオリゴ配列を固定したDNA チ

ップを利用した実験ではカニクイザル脳前頭葉で発現している遺伝子の約90%がヒト脳でも共通して発現しており、そのうち26%で発現量に2倍以上の差が観察されており、カニクイザルは脳機能の進化を研究するのに格好の材料であると思われる。

ヒト EST の網羅的解析によればヒトゲノムにコードされた遺伝子の40-60%でスプライス変異体がつくられると予想されており、今までに確認されたスプライス変異体を分類してみると免疫系に関係するものを除けば、神経系に絡むものが最も多く、スプライス変異体が複雑な神経機能の構築に欠かせない存在であることがうかがえる。

本研究においてカニクイザルの75神経疾患遺伝子をコードする251cDNAの配列を明らかにしたが、その内、約20%はスプライス変異体であった。この割合は大量ESTに基づく40-60%という推定値を下回るが、この減少がカニクイザル脳で発現している遺伝子に共通した現象なのか、また神経疾患遺伝子に特徴的なものなのか今のところ不明である。また、33配列については新規のスプライス変異体である可能性が強く、このようなスプライス変異体がヒト脳でも発現しているのか、非ヒト霊長類に特徴的なものかといった点を検証し、他の転写産物との

発現量比を各組織や生育時期で調べて、霊長類のヒト化にともなう脳機能の精緻化や神経疾患の発症との関連性を追究する手がかりにしたい。

E. 結論

全長配列の分かっている75種類のカニクイザルの神経疾患遺伝子ホモログについて重複するcDNAを選別し、翻訳開始点を含む251クローンの配列を決定した。

相同性を基にした解析によれば、レファレンス配列として登録されている完全なORFを含むものが全体の72%で、20%はスプライス変異体とおもわれるcDNAであった。

また、このうち33配列は公開されているデータベース中に同様なエキソン構成をもつものがなく、新規転写変異体である可能性が示唆された。またゲノムDNAの変異に起因すると予想される転写変異産物が4遺伝子で見つかった。

本研究で収集した転写変異体はカニクイザルからひとへの脳機能の高度化を解明するのに役立つものと考えられる。

表1 カニクイザル75神経疾患遺伝子251cDNAの解析結果

配列の種類	クローン数
正常転写産物	181(72%)
異常転写産物	50(20%)
DNA配列の種間差	10(4%)
ゲノムDNA断片	2(0.8%)
キメラ	1(0.4%)
シークエンスエラー	7(3%)
合計	251

表2 スプライシング異常産物

cDNAの種類	クローン数	データベースに同種のcDNAがないもの
ORFの中央部に欠損/挿入のあるcDNA	12	7
Splicing site保存型	7	4
Splicing site非保存型	5	3
ORFの末端が短縮/伸長したcDNA	38	26
合計	50	33

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
平成15年度 分担研究報告書
「チンパンジーcDNA分離とヒトとの比較解析」

分担研究者 平井百樹 東京大学大学院新領域創成科学研究科教授

チンパンジーの完全長 cDNA ライブラリーを作製し、ランダムに選んだクローンについて塩基配列データベースの構築ならびにアノテーション付けを行った。その結果、約1万5千クローンから得られた5'端配列について、3,771種のヒト既知 mRNA に対応する配列が得られた。それらのうち約200配列について全長配列を決定した。5'端配列のうち1遺伝子につき複数のクローンが得られた226種の遺伝子について、コンセンサスシーケンスを決定することにより、ヒトとの配列一致度を比較した。その結果、5'-cDNA 全体は99.30%、5'-UTR 領域は98.79%、CDS 領域は99.42%、アミノ酸は99.44%などの値が得られた。本研究結果については論文報告し、使用した配列データは公共データベースに登録した。この解析過程において、塩基の挿入・欠失 (indel) に注目したところ、indel は CDS より 5'-UTR で約13-14倍多く起こっており、これを考慮するとヒトとの配列の違いは、置換率のみの場合より5'-cDNA 全体で1.2-1.4倍大きくなることが明らかとなった。本研究班で並行して実施中のカニクイザル配列の解析の結果と比較すると、5'-cDNA 全体でカニクイザルはチンパンジーの4.0倍塩基置換が起こっていることなどが示された。今後の研究資源として、本年度は精巣、肝臓、腎臓の試料を加えた。さらに、これまでに解析したチンパンジーcDNA クローンを研究資源としてひろく供給するための作業を始めた。

A. 研究目的

ヒトゲノム解読以後、次のゲノム解析対象としてチンパンジーが注目されている。ヒトの遺伝子の機能解析や、医療面での遺伝子技術の利用の研究基盤として、チンパンジーのゲノム解析は重要で、昨年末にはすでにゲノム概要が公開された。しかしながら、ヒトとのゲノム配列の比較に意味を持たせるには、チンパンジーについてもヒトと同程度の精度をもつ全配列を得る必要がある。進化の過程で生じた遺伝子の欠失と、遺伝子重複にともなう機能の多様化が種の分化に重要であったと考えられるが、これらを明らかにするには、現在の不完全なチンパンジーのゲノム配列データでは、ヒトの完全な配列に最も一致するように並列させようとしても見失われる情報が多い。たとえば、進化の過程で生じた機能多様化に関わるゲノム重複領域に関する情報を多数見失うおそれがある。また遺伝子の半数以上でオルターナティブスプライシングが見られるという報告があることから、ゲノム配列からだけではわからない遺伝子構造・機能の解析には、実際の転写配列としてのcDNAおよびESTのデータが必要不可欠である。現在のGenBankの

dbESTデータベースでは、チンパンジーは4,983配列が登録されており、生物種ごとの登録数の順位は148位にすぎない。1位のヒト549万および2位のマウス407万と比較して歴然とした違いがある。このような状況を踏まえ、本研究ではチンパンジーの遺伝子の配列情報をデータベースに加えることを目的とした。その成果として、現在登録されているチンパンジーの4,983配列のうち1,947配列は我々のグループが登録（2003年春公開）したものである (AU296732-AU298678) ことが挙げられる。さらには配列情報を増やすだけでなく、今後の生命医学研究分野の諸研究のための研究資源として供給されるよう、クローンの公的遺伝子資源バンクへの寄託を目的とした。

B. 研究方法

(1) チンパンジーcDNA配列の蓄積とアノテーション付け：ヒトの遺伝子配列のデータベース (RefSeqやLocusLink) を用いて、本研究で得たチンパンジーの塩基配列と相同な配列を持つヒトの遺伝子データを収集した。こうして、各相同遺伝子に関するアノテーション情報を参照して種間比較を行

なった。具体的には、本研究ではBLASTプログラムを用い、ヒトmRNA、EST、genomeの各配列データベースに対して相同性検索を行って配列データを分類した。全長cDNAクローンは、2000年に三和化学研究所の実験倫理委員会において承認を得て提供を受けたチンパンジー組織（19歳雄1個体の背部の皮膚組織ならびに死亡個体より得られた脳、肝臓、腎臓、精巣）を用いて、オリゴキャッピング法によって作製した（本事業の菅野分担研究者による）。これまで主として皮膚と脳由来のcDNAの5'側のシーケンシングによって、ランダムに選んだ約15,000クローンについてそれぞれ400塩基以上の長さの配列を蓄積した。また、5'端配列から得られたアノテーション情報に基づいてチンパンジー特異的と考えられる遺伝子を選択し、それらの完全長配列のシーケンシングを行った。

（2）cDNA配列の種間比較解析：正確度の高い配列データを得るため、1つの遺伝子につき3つ以上のクローンの配列が得られている場合について、その複数のクローンの配列からコンセンサス配列（共通配列）を作製することによって配列の種間比較を行った。具体的には、コンセンサス配列は、複数の配列をClustalWプログラムでアラインメントし、各塩基座位について配列間比較で塩基を決定することによって作製した。作製したコンセンサス配列を、対応するヒトの遺伝子配列と1塩基または1アミノ酸ずつ比較し、置換率を計算した。本年度は、挿入・欠失(indel)についても注目して解析した。

（3）ライブラリーの作製のための試料の補充：これまでの皮膚、脳に加え、他の組織についての解析を進めるべく、精巣、肝臓、腎臓などの試料を得た。精巣については、本研究班として、ライブラリー作製と解析をすでに始めている。これらの試料は、ライブラリー作製だけでなく、今後のマイクロアレイによる発現プロファイル解析用に確保した。一方、これまでに解析したクローンを順次研究資源としてひろく供給するため、詳細な解析を終了したクローンを選択し順次公的遺伝子資源バンクへ寄託する作業を進めた。

C. 研究結果

（1）チンパンジーcDNA配列の蓄積とアノテーション付け：5'端配列について、昨年度得た6,813配列に追加し、本年度は合計15,451配列へと増加させた。組織としては、これまでの脳、皮膚、肝臓に加え、新しく精巣のcDNAライブラリーの作製およびシーケンシングを始めた。その結果、15,451配列のうち10,040配列（3,771種）（65.0%）が、ヒトの遺伝子配列（human RefSeq mRNA）と高い相同性を持つことがわかった。相同なヒト遺伝子のアノテーション情報を利用して機能分類を行った結果を図1に示す。脳と皮膚組織由来の遺伝子の機能分類では特におおきな分布の差はみられなかった。一方、個々の遺伝子でみると、全体ではtubulin, eukaryotic elongation factorなどが多く、脳ではdynein synaptonemal-associated proteinが、皮膚ではkeratin類が多く得られ、組織特異的なスペクトルが見られた。遺伝子の種類数としては、脳組織から2,658、皮膚組織から1,166が同定されたが、両組織で重複するものは505だけであった。このことからかなりの割合で遺伝子が組織特異的に発現している可能性が示唆される。さらに予備的データであるが、新たに作製した精巣由来cDNAライブラリーからは413遺伝子が得られ、このうち他の組織（脳、皮膚、肝臓）と共通に得られたのは171遺伝子（41%）のみであり、この結果でも組織特異的な発現傾向を示していると考えられる。今後の重要課題としてマイクロアレイを用いた解析に取り組んでいく。チンパンジー全長配列については、5'端配列のアノテーション結果から選択した171配列についてシーケンシングし、165配列（137種）のヒトと相同な遺伝子配列を得て解読済みである。

（2）cDNA配列の種間比較解析：コンセンサス配列の解析は、遺伝子の領域（5'-UTR, CDS, 3'-UTR, amino acid）ごとに比較を行った。チンパンジー226遺伝子について、対応するヒト遺伝子配列（ホモログ）と比較した結果、塩基およびアミノ酸の置換率は、全体（5'-cDNA）で0.69%、5'-UTRで1.21%、CDSで0.58%、アミノ酸では0.56%、同義置換（ K_1 ）は1.33%、非同義置換（ K_2 ）は0.28%という値が得られた（図2）。置換率に挿入・欠

失(indel)を加えた配列の種間比較では、全体(5'-cDNA)で1.00%、5'-UTRで2.51%、CDSで0.68%という値であった。

本研究事業で別途得られているカニクイザル734遺伝子に関するデータでは、全体(5'-cDNA)で2.73%、5'-UTRで5.11%、CDSで2.19%、アミノ酸部位では1.74%、同義置換(K_a)は6.89%、非同義置換(K_d)は0.78%という値が得られている(図2)。同じく置換率に挿入・欠失(indel)を加えた配列の比較では、全体(5'-cDNA)で3.22%、5'-UTRで7.08%、CDSで2.33%という値であった。

配列比較の過程で、種間でさらに大きく異なる配列(数十塩基)があることも確認できている。これらはゲノム配列の違いだけでなく、オルターナティブ・スプライシングなどの転写後修飾を含むと考えられる。また、同一遺伝子の複数クローン配列の解析から、一塩基多型(SNP)も確認できた。チンパンジーのDNA配列では種内変異がヒトより大きいという報告があることから、SNPについても頻度が高いと推測される。本研究でもcDNAにみられるSNP(cSNP)について解析したところ、ヒトでも多型性の高いHLA-AとHLA-Bのチンパンジーのホモログでは、それぞれ14と23の1塩基の種ない変異が見つかった。これ以外でも14遺伝子から17ヶ所のSNPを発見した。そのうち14は翻訳領域にあり、その半分の7カ所のSNPは非同義座位であった。

チンパンジーの配列については、コンセンサス配列作製に使用した5'-EST、1,947配列を昨年中にGenBankに登録した。また、その他の配列についても、順次、登録準備を進めている。チンパンジーを中心とする配列および解析の情報については、データベース化して公開している

(<http://www.prigen.org/>)。

D. 考察

2003年春にヒトゲノム配列の完全版が公開されて以来、3万数千個といわれるヒト遺伝子の機能解析やゲノムから読み取るヒトの生物学的特性の解明に関する研究が推進されている。このようなゲノム研究の流れと呼応し、最近では、組織特異的遺伝子発現パターンの比較解析や、発生段階での

特異的遺伝子発現に関する研究の進展も著しく、再生医療についての生命科学を大きく変えようとしている。しかしながら、ゲノム配列情報から得られる遺伝子機能に関する研究は、必ずしも急速に進展しているとは言えない。むしろ、DNAメチル化などのエピジェネティックな修飾、RNA干渉、組織特異性発現などといった課題が話題となっている。このような遺伝子発現解析に別の面からの情報を与えるのが、発現遺伝子の直接的な比較解析的方法である。ヒトに関しては、倫理面の問題やインフォームド・コンセント(IC)の問題など、今後の研究推進には大きな障壁が存在する。この点で、ゲノムの相同性の高さにもとづく、モデル動物としてのサル類を対象にした研究の重要性が高まっている。サル類では、受精卵の採取などについてはICなどの問題がなく実施できる。ヒトで採取困難な組織・器官での遺伝子発現の解析を行うには、サル類でのcDNAの収集が有効であろう。ヒトでは発現が弱くサル類で発現が強いような遺伝子については、サル類でのcDNAを手がかりに探索することが期待される。また、サル類で得られたヒトでの未知配列に関しては、ヒト新規遺伝子の発見につながることを期待される。ヒトESTも多くが機能未知のままのこっている。これらの機能解析には、ヒトと生物学的体制が近いサル類での解析が望ましい。このような視点からみて、モデル動物としてのカニクイザルとチンパンジーの価値は極めて高い。また一方、他の哺乳動物に比較して格段に類似性が高い脳の構造機能からみて、マイクロアレーなどを用いた遺伝子発現の解析などでの有用性も特筆すべきである。また、これらの種のES細胞の発生における遺伝子発現の解析などに用いることも可能である。実際に我が国でチンパンジーのES細胞樹立の試みもなされている。

チンパンジーcDNAの解析結果では、確かにヒトの配列と高い一致率をみている。チンパンジーでは、ゲノム配列をヒトと比較したデータ(98.77%, Fujiyama et al. 2002)と比べても、やはり遺伝子配列の方が明らかに一致度が高い(99.31%(5' cDNA))。一般に、遺伝子(mRNA)配列では配列部位ごとに種間での保存度に違いがある。本研究でもヒトとの一致度は5'-UTRでは低く、

CDSでは高く、アミノ酸配列ではさらに高くなっている。アミノ酸の置換をおこす非同義置換は同義置換と比べて全体では1/5-1/10である。同義置換は中立突然変異の蓄積を反映するため、種間系統距離を計る一つの目安と考えられている。本研究事業では、カニクイザルに関する解析が先行して行なわれており、そこで得られたデータとの対照解析は、興味ある結果をもたらしている。たとえば、同義置換については、単純に見積もっても約5倍カニクイザルのほうがチンパンジーより変異度が大きい。これは本研究で初めて多数の核遺伝子の配列を比較した結果であり、ヒトとの分岐年代がチンパンジーでは約500-600万年、カニクイザルが約2,500-万年とされている系統関係の値を支持するひとつの基準となるだろう。また、少数ではあるが、チンパンジーで未知の配列や、ヒトの登録配列と比較して構造変化を示すものが見い出された。その機能上の違いや生物学的意味を知る上で、さらにカニクイザルでのホモログを解析したり、逆に、カニクイザルでヒトと異なる配列が見出されたときにはチンパンジーでのホモログを調べるという研究も可能である。

遺伝子の機能解析を行なううえで、本研究事業で得られたクローンは重要な研究資源として位置付けられる。われわれは、これらのクローンを公的遺伝子資源バンクに寄託する作業を進めている。これにより、ひろく生命医科学の研究に役立てるつもりである。

E. 結論

哺乳動物の遺伝子解析については、マウスのデータが充実しているが、ヒトとの系統的な差異から、より直接的で信頼度の高いデータを求めるには霊長類を用いた解析が必要である。現在、ヒトと最も近縁のチンパンジーチンパンジーゲノム解析は国際的に進んでいるが、遺伝子の機能解析については、全長 cDNA を対象にした研究が効率良く重要な情報をもたらすものと考えられる。チンパンジーについては、これまで試料採取が困難なことから限られた種類のも

のしか解析されていなかった。しかし、本研究では、非侵襲的な方法により、良質の mRNA を得て cDNA ライブラリーを作製しその塩基配列を解析した。今後はマイクロアレイなどによる発現解析が進展するものと考えられる。これらの塩基配列情報ならびに、全長 cDNA クローンは、生命医科学諸分野の進展のための価値の高い研究資源となるので、その供給のための作業を始めた。

F. 研究発表

1. 論文発表

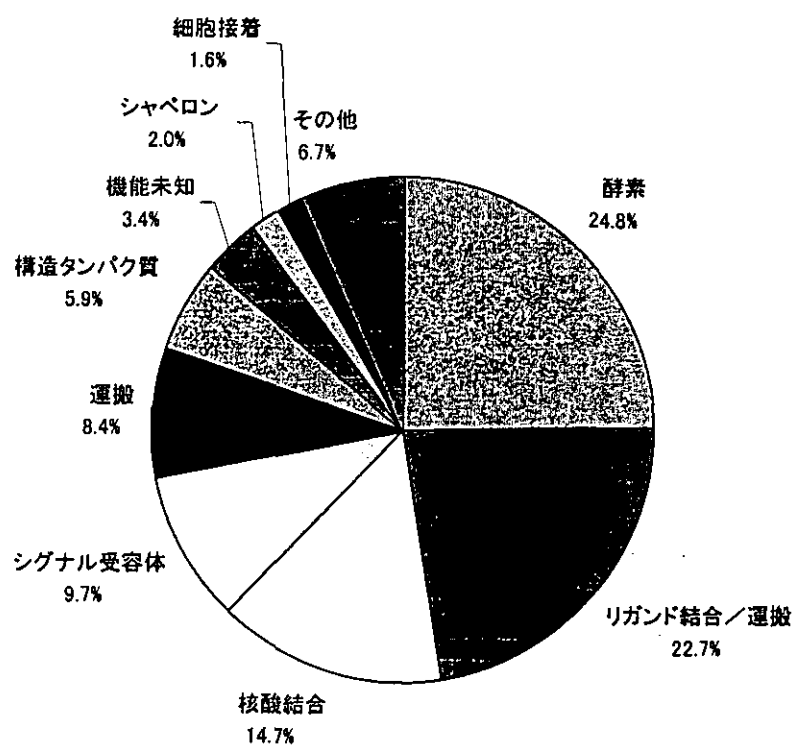
- 1) R. Sakate, N. Osada, M. Hida, S. Sugano, I. Hayasaka, N. Shimohira, S. Yanagi, Y. Suto, K. Hashimoto and M. Hirai: Analysis of 5' -end sequences of chimpanzee cDNAs. *Genome Research* 13 (2003) 1022-1026.
- 2) Y. Suto, Y. Ishikawa, H. Hyodo, T. Ishida, F. Kasai, T. Tanoue, I. Hayasaka, M. Uchikawa, T. Juji and M. Hirai: Gene arrangement at the Rhesus blood group locus of chimpanzees detected by fiber-FISH. *Cytogenet. Genome Res.* 101 (2003) 161-165.
- 3) Y. Suto, T. Ishida and M. Hirai: Multicolor karyotyping of six Old World monkey species. *CYTOLOGIA* 68 (2003) 431-436.
- 4) 坂手龍一、数藤由美子、平井百樹: ヒトとチンパンジーの遺伝子構成の異同を探る。 *バイオサイエンスとインダストリー* 61, 11-16 (2003).

2. 学会発表

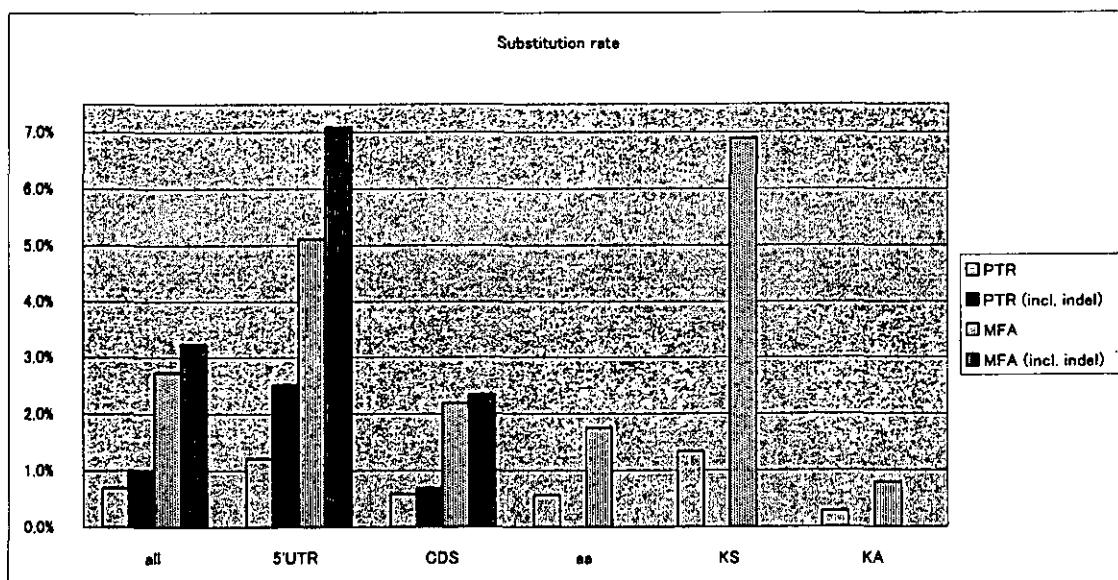
- 1) 坂手龍一、肥田宗友、長田直樹、数藤由美子、菅野純夫、早坂郁夫、橋本雄之、平井百樹「チンパンジー遺伝子配列データベース」第19回日本霊長類学会大会: 宮城教育大学 2003. 6. 27-29.

G. 知的所有権の取得状況

取得なし



(図1) チンパンジーcDNAライブラリーから得られた遺伝子の機能分類 (機能アノテーションのある約2,000遺伝子) (Gene Ontology; Molecular Function, <http://www.geneontology.org/>)



(図2) チンパンジー (PTR) の226遺伝子とカニクイザル (MFA) の734遺伝子の5' cDNA配列による、ヒトホモログとの塩基置換率、アミノ酸置換率、同義・非同義置換率の比較、および、塩基の挿入・欠失を考慮した場合の塩基配列の相違 (incl. indel)。UTR: untranslated region, CDS: coding sequence, KS: synonymous substitution, KA: nonsynonymous substitution

補助表

・ 公的遺伝子バンクに寄託予定のクローン523配列 (5' ESTおよび完全長配列 (F、24配列))

clone	RefSeq Acc#	clone	RefSeq Acc#	clone	RefSeq Acc#
PccB0230	NM_148909	PccB1967	NM_021009	PccB2879	NM_053276
PccB0267	NM_002954	PccB2003	NM_001352	PccB3027F	NM_002107
PccB0458	NM_182810	PccB2072	NM_012478	PccB3163	NM_005566
PccB0751	NM_021009	PccB2077	NM_004064	PccB3192	NM_001402
PccB0759F	NM_004046	PccB2206	NM_000980	PccB3368	NM_001402
PccB0778	NM_182935	PccB2211	NM_001402	PccB3379	NM_182935
PccB0791	NM_003068	PccB2234	NM_001402	PccB3380	NM_004500
PccB0929	NM_001918	PccB2237	NM_004718	PccB3410	NM_013232
PccB1124F	NM_001402	PccB2290	NM_003312	PccB3425	NM_004046
PccB1210	NM_001402	PccB2305	NM_004056	PccB3445	NM_001402
PccB1218	NM_001402	PccB2330	NM_004408	PccB3470	NM_001402
PccB1222	NM_001402	PccB2345	NM_182810	PccB3476	NM_005324
PccB1249	NM_006386	PccB2382	NM_006938	PccB3486	NM_024895
PccB1262	NM_024946	PccB2404	NM_000661	PccB3488	NM_012423
PccB1296	NM_006761	PccB2501	NM_000968	PccB3643	NM_004718
PccB1388	NM_006098	PccB2519	NM_017807	PccB3687	NM_003707
PccB1539F	NM_000371	PccB2532	NM_000661	PccB3915	NM_005566
PccB1541	NM_001537	PccB2542	NM_014167	PccB3957	NM_005566
PccB1570	NM_019026	PccB2544	NM_001402	PccB3961	NM_001402
PccB1673	NM_000979	PccB2547	NM_000661	PccB4130	NM_000661
PccB1758	NM_021009	PccB2606	NM_000968	PccB4131	NM_001402
PccB1777	NM_003766	PccB2853	NM_032257	PccB4133	NM_001402

PccB4134	NM_001402	Pf1B1255	NM_012111	Pf1B2970	NM_198589
PccB4135	NM_001402	Pf1B1273	NM_002055	Pf1B2981	NM_002629
PccB4136	NM_001402	Pf1B1275	NM_021009	Pf1B3016	NM_000967
PccB4142	NM_001002	Pf1B1281	NM_000029	Pf1B3024	NM_001788
PccB4180	NM_002715	Pf1B1347	NM_000979	Pf1B3058	NM_004040
PccB4252F	NM_001063	Pf1B1356	NM_172170	Pf1B3081	NM_052880
PccB4275	NM_001402	Pf1B1392	NM_183049	Pf1B3115	NM_015980
PccB4285	NM_001402	Pf1B1510	NM_006743	Pf1B3170	NM_015084
PccB4287	NM_000661	Pf1B1627	NM_177924	Pf1B3246	NM_006430
PccB4640	NM_006713	Pf1B1641	NM_004396	Pf1B3248	NM_021009
Pf1B0120	NM_018955	Pf1B1652	NM_020755	Pf1B3317	NM_021009
Pf1B0280	NM_000729	Pf1B1716	NM_000439	Pf1B3343	NM_020755
Pf1B0306	NM_003179	Pf1B1749	NM_003333	Pf1B3389	NM_001012
Pf1B0376	NM_001012	Pf1B1765	NM_000178	Pf1B3407	NM_183049
Pf1B0433	NM_006466	Pf1B1770	NM_004396	Pf1B3410	NM_001063
Pf1B0461	NM_004355	Pf1B1941	NM_001757	Pf1B3440	NM_005660
Pf1B0493	NM_005324	Pf1B1959	NM_000729	Pf1B3442	NM_000990
Pf1B0494	NM_004244	Pf1B1991	NM_003487	Pf1B3472	NM_021009
Pf1B0507	NM_001288	Pf1B2004	NM_005252	Pf1B3481	NM_005613
Pf1B0517	NM_012423	Pf1B2010	NM_183049	Pf1B3488	NM_001757
Pf1B0518	NM_001547	Pf1B2017	NM_012478	Pf1B3567	NM_021009
Pf1B0537	NM_004396	Pf1B2109	NM_003001	Pf1B3574	NM_006054
Pf1B0584	NM_000990	Pf1B2150	NM_001788	Pf1B3601	NM_000029
Pf1B0588	NM_014961	Pf1B2152	NM_005252	Pf1B3641	NM_000895
Pf1B0630	NM_181504	Pf1B2253	NM_183049	Pf1B3649	NM_177924
Pf1B0650	NM_000029	Pf1B2325	NM_001757	Pf1B3665	NM_005252
Pf1B0669	NM_001344	Pf1B2465	NM_001063	Pf1B3709	NM_183049
Pf1B0738	NM_001788	Pf1B2467	NM_004396	Pf1B3758	NM_005348
Pf1B0763	NM_004068	Pf1B2477	NM_002128	Pf1B3765	NM_139212
Pf1B0781	NM_000235	Pf1B2507	NM_014961	Pf1B3790	NM_000029
Pf1B0818	NM_183049	Pf1B2527	NM_000986	Pf1B3795	NM_005324
Pf1B0835	NM_001690	Pf1B2627	NM_183049	Pf1B3801	NM_002055
Pf1B0839	NM_002965	Pf1B2640	NM_021009	Pf1B3802	NM_002055
Pf1B0882	NM_033209	Pf1B2647	NM_001402	Pf1B3817	NM_130811
Pf1B0946	NM_183049	Pf1B2661	NM_001257	Pf1B3827	NM_153757
Pf1B0991	NM_001402	Pf1B2682	NM_005348	Pf1B3852	NM_002055
Pf1B1032	NM_006391	Pf1B2687	NM_004396	Pf1B3861	NM_021947
Pf1B1040	NM_033087	Pf1B2713	NM_001402	Pf1B3865	NM_004396
Pf1B1043	NM_183049	Pf1B2716	NM_000029	Pf1B4019	NM_183049
Pf1B1046	NM_013283	Pf1B2736	NM_005566	Pf1B4058	NM_005566
Pf1B1122	NM_001402	Pf1B2763	NM_018184	Pf1B4065	NM_183049
Pf1B1130	NM_183049	Pf1B2764	NM_003081	Pf1B4075	NM_000979
Pf1B1132	NM_020755	Pf1B2781	NM_001418	Pf1B4140	NM_021009
Pf1B1138	NM_003179	Pf1B2795	NM_005613	Pf1B4153	NM_000029
Pf1B1143	NM_183049	Pf1B2818	NM_001861	Pf1B4166	NM_002954
Pf1B1161	NM_006713	Pf1B2830	NM_000963	Pf1B4188	NM_021009
Pf1B1177	NM_183049	Pf1B2843	NM_183049	Pf1B4202	NM_172220
Pf1B1179	NM_021009	Pf1B2848	NM_001664	Pf1B4212	NM_148908
Pf1B1222	NM_153201	Pf1B2853	NM_023011	Pf1B4236	NM_172220
Pf1B1231	NM_015084	Pf1B2872	NM_183049	Pf1B4242	NM_005613
Pf1B1235	NM_001516	Pf1B2920	NM_001063	Pf1B4275	NM_001993

Pf1B4302	NM_005613	Pf1B6560	NM_005566	Pf1B8629	NM_002053
Pf1B4332	NM_005613	Pf1B6563	NM_001757	Pf1B8658	NM_016395
Pf1B4426	NM_001402	Pf1B6588	NM_021009	Pf1B8673	NM_172226
Pf1B4464	NM_005252	Pf1B6631	NM_001021	Pf1B8689	NM_031279
Pf1B4465	NM_005348	Pf1B6632	NM_000235	Pf1B8708	NM_153201
Pf1B4542	NM_005566	Pf1B6654	NM_000994	Pf1B8727	NM_183049
Pf1B4567	NM_005613	Pf1B6660	NM_153757	Pf1B8787	NM_021009
Pf1B4665	NM_001610	Pf1B6675	NM_001757	Pf1B8795	NM_019051
Pf1B4695	NM_005613	Pf1B6678	NM_020755	Pf1B8816	NM_021074
Pf1B4702	NM_000981	Pf1B6773	NM_021009	Pf1B8857	NM_014868
Pf1B4795	NM_001788	Pf1B6809	NM_130811	Pf1B8925	NM_014868
Pf1B4857	NM_006713	Pf1B6865	NM_000029	Pf1B8981	NM_014160
Pf1B4893	NM_001634	Pf1B6989	NM_183049	Pf1B8989	NM_012392
Pf1B4940	NM_000029	Pf1B7033	NM_016091	Pf1B8994	NM_015683
Pf1B4956	NM_005252	Pf1B7039	NM_005252	Pf1B9101	NM_001516
Pf1B4988	NM_000990	Pf1B7227	NM_005613	Pf1B9141	NM_006430
Pf1B5089	NM_001402	Pf1B7234	NM_018216	Pf1B9142	NM_005348
Pf1B5133	NM_183049	Pf1B7247	NM_001788	Pf1B9154	NM_005022
Pf1B5146	NM_001788	Pf1B7248	NM_003838	Pf1B9157	NM_001928
Pf1B5158	NM_000997	Pf1B7455	NM_153201	Pf1B9168	NM_001402
Pf1B5180	NM_006024	Pf1B7457	NM_005613	Pf1B9182	NM_004396
Pf1B5227	NM_001788	Pf1B7474	NM_005613	Pf1B9249	NM_001063
Pf1B5329	NM_139316	Pf1B7540	NM_001968	Pf1B9271	NM_001016
Pf1B5343	NM_153201	Pf1B7543	NM_004046	Pf1B9275	NM_005348
Pf1B5368	NM_139316	Pf1B7547	NM_005443	Pf1B9276	NM_005348
Pf1B5373	NM_183049	Pf1B7551	NM_020755	Pf1B9280	NM_005348
Pf1B5502	NM_153201	Pf1B7680	NM_006009	Pf1B9281	NM_005566
Pf1B5534	NM_003925	Pf1B7781	NM_021009	Pf1B9316	NM_153201
Pf1B5540	NM_201429	Pf1B7805	NM_005613	Pf1B9320	NM_183049
Pf1B5554	NM_183049	Pf1B7848	NM_001788	Pf1B9333	NM_000029
Pf1B5563	NM_001743	Pf1B7850	NM_018683	Pf1B9379	NM_005877
Pf1B5565	NM_001416	Pf1B7908	NM_005566	Pf1B9384	NM_021009
Pf1B5608	NM_020140	Pf1B7941	NM_000029	Pf1B9387	NM_003469
Pf1B5810	NM_005348	Pf1B7945	NM_177924	Pf1B9430	NM_006009
Pf1B5825	NM_021009	Pf1B7954	NM_002796	Pf1B9438	NM_002715
Pf1B5833	NM_002055	Pf1B7955	NM_002796	Pf1B9454	NM_001788
Pf1B5841	NM_182935	Pf1B7956	NM_002948	Pf1B9473	NM_018057
Pf1B5847	NM_001788	Pf1B7981	NM_021009	Pf1B9508	NM_022130
Pf1B5962	NM_002055	Pf1B7988	NM_006565	Pf1B9547	NM_000963
Pf1B5965	NM_000029	Pf1B8091	NM_005613	Pf1B9609	NM_001788
Pf1B6015	NM_015683	Pf1B8108	NM_002128	Pf1B9637	NM_183049
Pf1B6016	NM_003179	Pf1B8109	NM_005530	Pf1B9638	NM_016091
Pf1B6019	NM_004078	Pf1B8151	NM_012478	Pf1B9649	NM_018184
Pf1B6157	NM_014868	Pf1B8155	NM_004396	Pf1B9657	NM_012478
Pf1B6173	NM_003333	Pf1B8289	NM_020472	Pf1B9668	NM_183049
Pf1B6181	NM_003491	Pf1B8290	NM_020472	Pf1B9688	NM_005566
Pf1B6257	NM_005348	Pf1B8307	NM_021009	Pf1B9755	NM_178579
Pf1B6259	NM_005275	Pf1B8334	NM_002786	Pf1B9772	NM_000979
Pf1B6273	NM_005915	Pf1B8373	NM_134446	Pf1B9807	NM_005796
Pf1B6362	NM_006009	Pf1B8548	NM_183049	Pf1B9839	NM_031279
Pf1B6433	NM_183049	Pf1B8614	NM_182547	Pf1B9886	NM_001788

Pf1B9907	NM_001788	PorB1126	NM_019026	PstA2524	NM_033664
Pf1B9955	NM_181679	PorB1143	NM_182810	PstA2590	NM_000971
Pf1C0037	NM_000983	PorB1150	NM_001030	PstA2631	NM_020360
Pf1C0042	NM_004396	PorB1154	NM_002964	PstA2646	NM_021009
Pf1C0047	NM_005398	PorB1179F	NM_000270	PstA2661	NM_005798
PlvA0042	NM_000029	PorB1309F	NM_001743	PstA2686	NM_005185
PlvA0050	NM_002217	PorB1332F	NM_005348	PstA2792	NM_004039
PlvA0057	NM_001010	PorB1359	NM_016311	PstA3324	NM_001920
PlvA0069	NM_000062	PorB1371	NM_021009	PstA5084	NM_021009
PlvA0091	NM_032520	PorB1442F	NM_005566	PstA5328	NM_022771
PorA0407	NM_134446	PorB1543	NM_005613	PstA5363	NM_000110
PorA0413F	NM_004396	PorB1551	NM_013354	PstA5427	NM_033657
PorA0447	NM_020755	PorB1615	NM_000997	PstA5455	NM_012232
PorA0463F	NM_001549	PorB1642	NM_021009	PstA5459F	NM_001733
PorA0480	NM_001063	PorB1654	NM_182810	PstA5530	NM_005627
PorA0650	NM_021009	PstA0058	NM_004870	PstA5591	NM_000978
PorA0796	NM_021009	PstA0081	NM_003001	PstA5653	NM_012392
PorA0963	NM_001537	PstA0100	NM_021009	PstA5724	NM_021009
PorA0990F	NM_000990	PstA0149	NM_004596	PstA5902	NM_002575
PorA1102	NM_017503	PstA0203	NM_006431	PstA6252	NM_007213
PorA1108	NM_012478	PstA0226	NM_002030	PstA6266	NM_006311
PorA1109	NM_000980	PstA0227	NM_021009	PstA6268F	NM_001416
PorA1117	NM_001021	PstA0305	NM_001337	PstA6433	NM_018206
PorA1123	NM_021009	PstA0386	NM_002030	PstA6478	NM_182715
PorA1173	NM_021009	PstA0411	NM_021009	PstA6505	NM_000895
PorA1201	NM_002954	PstA0427	NM_005926	PstA6565	NM_021009
PorA1257	NM_012478	PstA0518	NM_004926	PstA6602F	NM_002300
PorA1264	NM_001030	PstA0540	NM_021009	PstA6629F	NM_001788
PorA1278	NM_021009	PstA0553	NM_000518	PstA6661	NM_005795
PorA1338	NM_004428	PstA0568	NM_000993	PstA6743	NM_021009
PorA1390	NM_014166	PstA0845	NM_024007	PstA6807	NM_003318
PorB0265	NM_007178	PstA0881	NM_001345	PstA6843	NM_004168
PorB0308F	NM_005348	PstA0896	NM_012316	PstA6902F	NM_000095
PorB0337	NM_001002	PstA0902	NM_138565	PstA6909	NM_001605
PorB0339	NM_000979	PstA0905	NM_024583	PstA7062	NM_021009
PorB0434	NM_021009	PstA0925	NM_001997	PstA7127	NM_021009
PorB0458	NM_006937	PstA0933	NM_014520	PstA7336F	NM_000095
PorB0472	NM_016311	PstA0941	NM_002806	PstA7347	NM_021009
PorB0561	NM_021009	PstA1206	NM_021009	PstA7409	NM_014868
PorB0609	NM_020307	PstA1934F	NM_005566	PstA7556	NM_173704
PorB0726	NM_001030	PstA2035	NM_012232	PstA7589	NM_021009
PorB0736	NM_005613	PstA2062	NM_013293	PstA7601	NM_003186
PorB0765	NM_021009	PstA2143	NM_021009	PstA7647	NM_012478
PorB0878	NM_017712	PstA2325	NM_021009	PstA7677	NM_014508
PorB0941	NM_181504	PstA2391	NM_018282	PstA7728	NM_001607
PorB0972	NM_024034	PstA2422F	NM_000700	PstA7854	NM_021009
PorB1017	NM_001183	PstA2466F	NM_016091	PstA7887	NM_000186
PorB1032	NM_016422	PstA2488F	NM_001402	PstA8027	NM_018665
PorB1102	NM_014248	PstA2497F	NM_000183	PstA8158	NM_130778
PorB1114	NM_001003	PstA2507	NM_173704		
PorB1120	NM_021009	PstA2520	NM_100264		

平成15年度分担研究報告

ヒトおよび霊長類各種組織からの完全長cDNAの分類

分担研究者 菅野純夫 東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター
ゲノム構造解析分野助教授

本年度も、オリゴキャップ法による完全長cDNAライブラリーからcDNAクローンを分離し、1パス塩基配列決定を行った。また、このデータおよび過去のデータについて、カニクイザル、チンパンジー、ヒトの遺伝子の転写開始部位をゲノムにマップし、プロモーター部位の同定を行い、チンパンジーについては400プロモーターを、カニクイザルについては300プロモーターを同定した。また、これらのプロモーターのクローニングを行った。

A. 研究目的

悪性腫瘍・動脈硬化・糖尿病・精神病等疾病の理解とその解決のためには、システムとしての生体を遺伝子レベルで理解する事が必要である。このためにはヒトの全遺伝子が明らかにされ、その発現解析・機能解析が行われることが必要になる。

遺伝子の発現解析、機能解析には、mRNAの完全なコピーである完全長cDNAが必要であり、遺伝子レベルで疾病を研究していくための欠くことの出来ない基盤となっている。特に、疾病の遺伝子レベルの研究を広範に展開するために、ヒトの全遺伝子の完全長cDNAクローンを持つことは重要と考えられる。

本研究は、疾病の遺伝子レベルの研究基盤として、完全長cDNAクローンを多数収集することを目標とする。特に、完全長cDNAの機能解析に直結するように、発現可能な形の完全長cDNAの収集を目指す。

B. 研究方法

完全長cDNAクローンの収集を効率

よく進めるため、我々の開発したオリゴキャップ法を用い、完全長cDNAライブラリーを各種臓器より作製する。この際、ベクターとして、強力な発現ベクターであるpME18S-FLを使用する。それらのcDNAライブラリーより多数のクローンを分離し、それらの1パス塩基配列決定を行い、既知のcDNAとのデータ比較等を行うことで、完全長cDNAクローンを多数分離する。

cDNAライブラリーの作製を行うための材料採取にあたり、倫理面についての十分な配慮を行う。

C. 研究結果

1、完全長cDNAライブラリーの作製

本年度も前年度に引き続き、発現ベクターpME18S-FL3(Genbank accession number AB009864)をベクターに、完全長cDNAライブラリーを作製した。チンパンジーは、精巣のcDNAライブラリーを作製した。

2、完全長cDNAライブラリーの1パス塩基配列決定

本年度は、前年度及び今年度に作製したチンパンジー各種組織cDNAライブラリーからクローンをランダムに

選んでシーケンスを行い、約20,000の5'端部分配列を得た。

これまで得られた配列データを、チンパンジー、カニクイザル等のゲノム配列にマップし、チンパンジーでは約400の、カニクイザルでは約300の遺伝子について、転写開始部位についてマップすることができた。

これらの転写開始部位を含む約1000塩基のゲノム領域をチンパンジーおよびカニクイザルのゲノムDNAからクローン化をおこない、その活性をヒト培養細胞HEK293で検討したところ、ほとんどすべてのものにプロモーター活性が認められた。

D. 考察

本年度は、引き続き、ライブラリーの作製とcDNAクローンの5'端配列を続けるとともに、それまでに、蓄積したデータを元にヒト、チンパンジー、カニクイザルで共通に存在する遺伝子のプロモーター部位の同定とクローニングを行った。

チンパンジーとカニクイザルのゲノムDNA塩基配列は、データベースにほとんど登録されていない。従って、ゲノム配列をコンピュータ上で検索すると同時に、対応するヒトの遺伝子のプロモーター配列を用い、実際にヒトの配列を元にして作ったPCRプライマーで、チンパンジーとカニクイザルのゲノムDNAをPCRすることも行った。成功率はチンパンジーがほぼ90%であるのに対し、カニクイザルは65-70%程度になる。これらのプロモーター部位については、配列を決定中であり、発現に必要な転写因子結合配列がどの程度保存されているか、検討する良い材料となる。

これらの、プロモーター部位につい

ては、ルシフェラーゼ遺伝子に結合して、実際に、ヒト培養細胞で活性の検討を行い、ほとんどのものに活性を認めた。ヒトの対応する遺伝子のプロモーター活性との比較は現在進行中である。ただ、プロモーター活性を計るための、良い培養細胞系が無いことが問題である。特にチンパンジーには、適当な細胞が無く、ヒトの細胞を使用した結果をどのように評価すべきか慎重に考慮する必要がある。

ヒトとカニクイザルのcDNAの配列比較から、5'UTR及びCDSは保存状態が高いことが確認された。また、全体的に見れば、転写開始点の分布状態についても、類似が見られる。プロモーター部分に大きな差が見出せば、こうした差がヒトとカニクイザルの差を生みだしている可能性もある。アルツハイマー病やエイズなどヒトで見られる疾患が他の霊長類で見られないことは良く知られており、プロモーター配列差の研究も疾患の治療に貢献する可能性がある。

E. 結論

カニクイザル完全長cDNAライブラリーと5'端部分配列決定を組み合わせ、完全長cDNAクローンを分離していく方法は、完全長cDNAクローンを収集して、疾患の研究基盤を整備する上で有効であるばかりでなく、ヒトと他の霊長類のプロモーター配列上の機能部分の差異を推定していくことに重要な示唆を与えると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Xie GX, Han X, Ito E, Yanagisawa Y, Maruyama K, Sugano S, Suzuki Y, Wang Y, Gabriel A, Stevens SK, Mitchell J, Sharma M, Palmer PP. Gene structure, dual-promoters and mRNA alternative splicing of the human and mouse regulator of G protein signaling GAIP/RGS19. *J Mol Biol.* 325(4): 721-32, 2003.
2. Jin Y, Suzuki H, Maegawa S, Endo H, Sugano S, Hashimoto K, Yasuda K, Inoue K.: A vertebrate RNA-binding protein Fox-1 regulates tissue-specific splicing via the pentanucleotide GCAUG. *EMBO J.* 22(4): 905-12, 2003.
3. Harada T, Matsuzaki O, Hayashi H, Sugano S, Matsuda A, Nishida E. AKRL1 and AKRL2 activate the JNK pathway. *Genes Cells.* 8(5): 493-500, 2003.
4. Suzuki Y, Sugano S.: Construction of a full-length enriched and a 5'-end enriched cDNA library using the oligo-capping method. *Methods Mol Biol.* 221: 73-91, 2003.
5. Sakate R, Osada N, Hida M, Sugano S, Hayasaka I, Shimohira N, Yanagi S, Suto Y, Hashimoto K, Hirai M. Analysis of 5'-end sequences of chimpanzee cDNAs. *Genome Res.* 13(5): 1022-6, 2003.
6. Matsuda A, Suzuki Y, Honda G, Muramatsu S, Matsuzaki O, Nagano Y, Doi T, Shimotohno K, Harada T, Nishida E, Hayashi H, Sugano S. Large-scale identification and characterization of human genes that activate NF-kappaB and MAPK signaling pathways. *Oncogene.* 22(21): 3307-18, 2003.
7. Arai M, Yokosuka O, Chiba T, Imazeki F, Kato M, Hashida J, Ueda Y, Sugano S, Hashimoto K, Saisho H, Takiguchi M, Seki N.: Gene Expression Profiling Reveals the Mechanism and Pathophysiology of Mouse Liver Regeneration. *J Biol Chem.* 278(32): 29813-29818, 2003.
8. Furukawa K, Horie M, Okutomi K, Sugano S, Furukawa K. Isolation and functional analysis of the melanoma specific promoter region of human GD3 synthase gene. *Biochim Biophys Acta.* 1627(2-3): 71-8, 2003.
9. Shibui-Nihei A, Ohmori Y, Yoshida K, Imai J, Oosuga I, Iidaka M, Suzuki Y, Mizushima-Sugano J, Yoshitomo-Nakagawa K, Sugano S. The 5' terminal oligopyrimidine tract of human elongation factor 1A-1 gene functions as a transcriptional initiator and produces a variable number of Us at the transcriptional level. *Gene.* 311: 137-45, 2003.
10. Kikuchi S, Sugano S, Matsubara K, Kawai J, Carninci, Hayashizaki Y et al, Collection, mapping, and annotation of over 28,000 cDNA clones from japonica rice. *Science.* 301: 376-379, 2003.
11. Ohira M, Morohashi A, Nakamura Y, Isogai E, Furuya K, Hamano S, Machida T, Aoyama M, Fukumura

- M, Miyazaki K, Suzuki Y, Sugano S, Hirato J, Nakagawara A. Neuroblastoma oligo-capping cDNA project: toward the understanding of the genesis and biology of neuroblastoma. *Cancer Lett.* 197(1-2): 63-8, 2003.
12. Tsai CC, Chung YD, Lee HJ, Chang WH, Suzuki Y, Sugano S, Lin JY. Large-scale sequencing analysis of the full-length cDNA library of human hepatocellular carcinoma. *J Biomed Sci* 10: 636-643. 2003.
 13. Ohira M, Morohashi A, Inuzuka H, Shishikura T, Kawamoto T, Kageyama H, Nakamura Y, Isogai E, Takayasu H, Sakiyama S, Suzuki Y, Sugano S, Goto T, Sato S, Nakagawara: Expression profiling and characterization of 4200 genes cloned from primary neuroblastomas: identification of 305 genes differentially expressed between favorable and unfavorable subsets. *Oncogene.* 22:5525-5536. 2003
 14. Ito Y, Oike Y, Yasunaga K, Hamada K, Miyata K, Matsumoto S, Sugano S, Tanihara H, Masuho Y, Suda T. Inhibition of angiogenesis and vascular leakiness by angiopoietin-related protein 4. *Cancer Res.* 63: 6651-6657, 2003.
 15. Clark, M.S., Edwards, Y.J., Peterson, D., Clifton, S.W., Thompson, A.J., Sasaki, M., Suzuki, Y., Kikuchi, K., Watabe, S., Kawakami, K. Sugano, S. et al. *Fugu* ESTs: New Resources for Transcription Analysis and Genome Annotation *Genome Res.* (2003) in press
 16. Suzuki, Y., Yamashita, R., Sugano, S. and Nakai, K. (2004) *Nucleic Acids Res.* in press.
 17. Watanabe, J., Sasaki, M., Suzuki, Y. and Sugano, S. (2004) *Nucleic Acids Res.* in press.
 18. Minamikawa-Tachino R, Kabuyama N, Gotoh T, Kagei S, Naruse M, Kisu Y, Togashi T, Sugano S, Usami H, Nomura N. High-throughput classification of images of cells transfected with cDNA clones. *C R Biol.*326: 993-1001, 2003.
 19. Yamashita R, Suzuki Y, Nakai K, Sugano S. Small open reading frames in 5' untranslated regions of mRNAs. *C R Biol.* 326:987-991, 2003.
 20. Auffray C, Chen Z, Hood L, Soares B, Sugano S. Foreword: from the TRANSCRIPTOME conferences to the SYSTEMOSCOPE international consortium. *C R Biol.* 326:867-875, 2003.
 21. Ota T, Suzuki Y, Isogai T, Sugano S. et al., Complete sequencing and characterization of 21,243 full-length human cDNAs. *Nat Genet.* 36:40-45, 2004.
2. 学会発表
省略

研究成果の刊行に関する一覧表

- 1) Arai M, Yokosuka O, Chiba T, Imazeki F, Kato M, Hashida J, Ueda Y, Sugano S,
Hashimoto K, Saisho H, Takiguchi M, Seki N. :
Gene expression profiling reveals the mechanism and pathophysiology of mouse liver
regeneration.
J Biol Chem. 278(32):29813-29818, 2003.
- 2) Mesak F.M., Osada, N., Hashimoto, K., Liu, Q. Y. and Ng, C. E. :
Molecular cloning, genomic characterization and over-expression of a novel gene,
XRRA1, identified from human colorectal cancer cell HCT116clone2_XRR and macaque
testis
BMC Genomics 4: 32, 1-17, 2003.
- 3) Iwashita, S., Itoh, T., Sezaki, M., Oshima, K., Hashimoto, E., Kitagawa, Y.,
Takahashi, I., Masui, T., Hashimoto, K., and Makalowski, W. :
A transposable element-mediated gene divergence that directly produces a novel type
protein including the endonuclease domain of RTE-1: gene duplication of bovine bcnt
Mol. Biol. Evol. 20(9): 1556-1563, 2003.
- 4) Sakate R., Hida, M., Sugano, S., Hayasaka, I., Shimohira, N., Yanagi, S., Suto, Y.,
Osada, N., Hashimoto, K., Hirai, M.: Analysis of 5'-end sequences of chimpanzee cDNAs
Genome Research 13:1022-1026, 2003.
- 5) Suzuki Y, Sugano S.: Construction of a full-length enriched and a 5'-end enriched
cDNA library using the oligo-capping method.
Methods Mol Biol. 221: 73-91, 2003.
- 6) 坂手龍一、数藤由美子、平井百樹 :
ヒトとチンパンジーの遺伝子構成の異同を探る。
バイオサイエンスとインダストリー 61: NO. 12, 11-16 (2003).

20030375

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。